

# Evaluation d'un outil moléculaire pour valider les mesures de maîtrise des salmonelles dans la filière

**Partenariat :**  
Anses unité HQPAP – Ploufragan

**Financier :**  
FranceAgrimer

**Contact :**  
sabine.jeuge@ifip.asso.fr

## Valorisation

### Formations et interventions

- SafePork 2019 (envisagé)
- Formations responsables qualité

### Publications

- Rapport d'étude, Mars 2019

## Contexte et objectifs

En 2017, *Salmonella* spp. a été responsable de 30 % des toxi-infections alimentaires collectives selon Santé Publique France. Peu de données quantitatives sont disponibles aux différents maillons de la filière porcine. La méthode de référence (ISO/TS 6579-2:2012) pour le dénombrement de *Salmonella* spp. présente l'inconvénient d'être chronophage avec un délai de 5 jours avant obtention du résultats de dénombrement. Les méthodes alternatives sur milieux chromogènes sont utilisables sur certaines matrices pauvres en flore annexe et ne permettent pas une récupération optimale des bactéries présentes mais stressées. Or, le long de la chaîne de l'élevage à la transformation de produit en passant par l'abattage, les bactéries subissent des nombreux stress entraînant des changements physiologiques, et un passage à l'état de bactéries viables mais non cultivables (VNC). L'objectif de ce projet est, dans un premier temps, la mise au point d'une **méthode de dénombrement des salmonelles pour les échantillons d'élevage (fèces) et les carcasses de porc** basée sur une PCR TaqMan (qPCR) et avec un traitement par un marqueur de viabilité, le propidium monoazide (PMA) afin d'éliminer l'amplification d'ADN des bactéries mortes des matrices

## Résultats

Les performances de la méthode PMA-qPCR ont été validées sur des cultures pures à différentes proportions de cellules vivantes et mortes, puis sur des cultures pures de cellules ayant subi des stress thermiques pour mimer les étapes de procédé d'abattage (60°C pour l'échaudage et 100°C pour le flambage). Dans un deuxième temps, la méthode a été confrontée à des matrices artificiellement contaminées par *Salmonella* spp (fèces et couenne) et les résultats ont été comparés à ceux obtenus par les méthodes usuellement utilisées pour ces matrices : le NPP miniaturisé pour les fèces et par dénombrement sur milieu chromogène pour les échantillons de couenne. Des stress thermiques (froid et

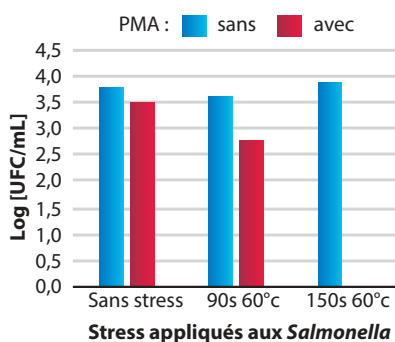
congélation pour les fèces et échaudage et flambage pour les couennes) ont également été appliqués aux cellules afin de tester les performances de la méthode sur des cellules stressées.

**Pour les fèces**, il a été possible de démontrer que la PMA-PCRq permet de quantifier les formes Viables Non Cultivables (VNC). Cette technique est donc plus performante que la méthode normée (NPP) pour quantifier la charge en salmonelles vivantes dans cette matrice. La limite de cette technique PMA-PCRq est son seuil de quantification qui est de 5.102 eq/gr. Ceci se traduit par le fait qu'il n'est pas possible de quantifier les salmonelles d'échantillons de fèces ayant des teneurs en salmonelles viables (VC/VNC) en-dessous de ce seuil.

**Pour les échantillons de couenne**, la PMA-qPCR a permis de quantifier des salmonelles stressées et de visualiser les intensités de stress en comparant les résultats de qPCR, PMA-qPCR et de dénombrement par méthode culturale. Ces essais ont montré qu'en condition de stress, les méthodes culturales sous-estimaient fortement la population bactérienne (concentration de viable cultivable inférieure à 1 log UFC/g pour une concentration de VNC de 6 log UFC/g). La limite de quantification de la méthode sur couenne est de 1,6.10<sup>2</sup> genome copies/cm<sup>2</sup>.

## Perspectives

La méthode PMA-qPCR développée dans ce projet, pourra être utilisée à l'élevage et à l'abattage afin de déterminer les niveaux de contaminations par *Salmonella* spp. des fèces ou des carcasses en prenant en compte la part de bactéries viables mais non cultivables. Ceci permettant **d'améliorer la connaissance de la prévalence de salmonelles à ces maillons de la filière en apportant des données quantitatives**. Une utilisation de la méthode en validation des mesures de maîtrise à l'abattoir peut également être envisagée afin de qualifier une étape du procédé vis-à-vis de *Salmonella* spp.



Effet de stress thermique type échaudage sur la proportion de *Salmonella* spp. viables en matrice couenne